# 蔬菜作物病害與我的研究生涯

王添成
台南縣善化鎮 亞蔬－世界蔬菜中心
（已於2009年9月2日退休）

## 摘　要

長達 35 年在亞蔬-世界蔬菜中心之蔬菜作物病害研究，專注於綠豆、大豆、 番茄及番椒等作物的主要真菌性病原菌族群結構的探討，抗病檢定技術之建立及抗病育種、研發抗病品系。首次發現胡蘿蔔葉片抽出液混合燕麥抽出液瓊脂培養基促進綠豆葉斑病菌(*Cercospora canescens*)產孢量最多。從近 4 千個綠豆種原中篩選到 10 個抗葉斑病及 18 個高度抗白粉病之種原，這些抗原經雜交後選育了無數抗病品系，推廣至全亞洲而造成「綠豆革命」。大豆流行病學之研究，了解氣象因子、溫度、露水期、灌溉方式及下雨對銹病病勢進展之影響。進而探討耐銹病之選育技術而選育 16 個高度耐銹病之品系。派駐沙烏地阿拉伯王國服務兩年期間，調查鑑定蔬菜病害並拍照為證，進而與虫害照片合印成「沙烏地阿拉伯王國作物病虫害及其防治」專刊。利用核糖体基因間間隔區限制片段長度多形性(ITS-RFLP haplotype) 技術配合病原菌表現型特性鑑定台灣的番椒炭疽病由 *Colletotrichum acutatum*, *C. boninense*, *C. capsici* 及 *C. gloeosporioides* 所引起。 其中 *C. acutatum* 最為優勢，近年已發現其出現病原性較強的病原型。高度抗病之抗原 PBC932, 80 及 81 被鑑定後，選育的抗病品系，提供全世界使用。2008 年鑑定台灣番椒疫病菌 A2 配對型之出現，病原性高於原有的 A1 配對型。已鑑定有三個病原型，但以病原型 3 為優勢族群。利用番椒單株純化技術，大大地提高抗原的抗病性而雜交選育了高度抗病品系。番茄黑黴病菌在番茄抽出液混合燕麥抽出液之瓊脂培養基上的產孢量最高。番茄對黑黴病菌的抗病性是由兩個隱性基因所控制，而且相互作用。台灣

大多數的番茄萎凋病菌屬於融合群 TW1 及 ABA IGS 基因型與 Race 2，它為優勢族群，目前的族群結構相當單純。利用幼苗抗病檢定協助抗病育種已選育不少抗萎凋病的大果番茄、櫻桃番茄及加工番茄品系。長期監測晚疫病菌族群變化，發現目前新基因型 US-11 已完全取代舊基因型 US-1，它不但沒有寄主專一性，抗滅達樂，均屬 A1 配對型，生理小種由早期的 Race T1,2 轉變為 2008 年的 Race T1,2,3,5。四個高度抗病的抗原 L3707,L3708,L3683 及 L3684 被鑑定後，L3708 的抗病基因(*Ph*-3)已被導入栽培種而選育到九個高度抗病的自交系 CLN2037A-I 及五個雜交 $F_1$, FMTT791-795， 其中 FMTT795 已於 2005 年審核通過，命名為花蓮亞蔬 17 號而推廣。

**關鍵詞：** 綠豆、番茄、番椒、葉斑病、白斑病、葉枯病、大豆銹病、生育期、流行病學、耐病性、炭疽病、疫病、病原型、黑黴病、萎凋病、晚疫病、生理小種、配對型、對滅達樂感受性、抗病檢定技術

## 緒　　言

1967年6月畢業於國立中興大學(原省立中興大學)植物病理學系，緊接著服完一年的預備軍官役。由於在校時師長們的諄諄教誨，畢業當時很幸運地通過了台灣省政府經濟建設人員特種考試。因此退伍後即被分發至台灣省糧食局總局(台北市杭州南路一段)，而參與了水稻病蟲害防治團隊。因為不太適應行政工作及頻繁的差旅行程，於是1970年參加台糖公司的招考而成為第一線的農藝技術師，1970-1972年服務於永康糖廠及善化糖廠。這段服務期間，高考就業曾分發到台灣省農林廳植保科及省農業試驗所，均未曾前往報到，殊為可惜。1973年亞蔬－世界蔬菜中心(原亞洲蔬菜研究發展中心)成立於台南縣善化鎮的善化糖廠之座駕農場，此乃設於台灣的第一個國際農業研究機構，而我又是土生土長的善化人，於是就近應徵而加入了這個國際唯一的蔬菜研究機構，開啟了我的蔬菜作物病害之研究生涯。

以下所述乃是過去近35年期間與亞蔬真菌組及育種組同仁們共同努力的研究成果，分享與台灣的科技專家們。

## 研究成果

### 一、綠豆真菌性病害之研究(1973年~1977年)

綠豆含有高達20-26%的蛋白質[14]，為國人喜食豆類之一。它是東南亞地區的主要經濟作物之一，種植相當廣泛。但由於栽培管理都很粗放加上高溫多濕之環境，常導致各種病害之嚴重危害，大大地降低了農民的收入。所以自亞蔬中心成立，綠豆即為主要研究作物之一，研發抗病品種推廣給農民種植是亞蔬一貫的政策。配合抗病育種的進行，以下是我們真菌組針對主要真菌性病害的研究：

1. 葉斑病(Cercospora leaf spot)

本病主要由*Cercospora canescens* Ell. & Mart.所引起，廣泛發生於炎熱潮濕之綠豆產區[14]。它經常造成嚴重的經濟損失，為綠豆產量無法提高的主要因素之一，所以它是東南亞及南亞地區最重要的綠豆病害之一。罹病後常導致提前落葉，影響產量及品質甚鉅，減產可達20-50%之多[3, 13, 61].

*C. canescens* 在一般的培養基上生長極為緩慢而且也不容易產孢。當時為應付大面積的田間抗病檢定所需之接種源而成功地研發了胡蘿蔔葉片抽出液混合燕麥抽出液之瓊脂培養基(Carrot leaf juice oatmeal agar)最適合它的生長。它培養在28℃而且每天照光12小時的環境，產孢最為豐富。綠豆葉片抽出液混合燕麥抽出液之瓊脂培養基次之[3, 52]，順利地解決了需時常供應大量接種源之難題。

本病原菌可經由種子傳播而作為下一期的初次接種源[5]。紅豆(Azuki bean)經人工接種及田間罹病葉分離證實為本病原菌的另一寄主。經試驗獲知本病害的發生與綠豆的生育期(株齡)有密切關係。開花前後開始為害最多，葉片罹病率急速上升[52]。

自1973年到1977年的11次田間抗病檢定中，總共從3,926個種原中共篩選到10個抗病種原，包括Blanco, STB#121, ML-5, ML-6, LM612, ML-3, PLM888, PLM945, Shanhua 1及LM013 yellow。這些抗病種原提供抗病育種計劃優良的親本材料而對亞蔬綠豆抗病育種之成功有莫大貢獻(50,52)。

2. 白粉病 (Powdery mildew)

本病由*Erysiphe polygoni* DC.所引起。它主要發生於冷涼及乾燥之季節，亦是台灣、中國、東南亞及南亞地區最主要的綠豆病害之一(53)。環境適宜時，整個生育期均容易發生為害。罹病後期，葉背呈紅褐色徵狀，而導致提前落葉，影響產量達20-40% (3, 50, 56, 68)。

本病原菌為絕對寄生菌，配合抗病檢定之需，研發了苗期接種篩選技術及田間檢定技術。前者乃是收集嚴重罹病葉的分生孢子撒於苗株之葉片上，然後將苗株放置於24℃的人工接種室。後者乃是在田間每隔十行供試材料種植一行極感病之品種供作接種源，而進行抗病檢定(50)。

自1974年到1977年的12次抗病檢定中，總共從3,881個綠豆種原中篩選到18個高度抗病及161個抗病的種原(50)。上述抗葉斑病及白粉病的豐富種原，加強了亞蔬中心綠豆抗病育種之進行而選育出很多抗病品系；提供中國、東南亞、南亞及其他綠豆生產地區進行區域試驗而選育出不少的優良品種在上述國家推廣，可說是進行了一次的「亞洲綠豆革命」。

3. 葉枯病(Leaf blight)

本病於1975年首次發現於亞蔬中心試驗田並鑑定由*Thanatephorus cucumeris*所引起，它亦可危害水稻而造成紋枯病(1)。本病多發生於高溫多濕之季節，以五至九月期間較適宜它的發生與進展。病斑擴大相當迅速，常見葉片與葉片黏貼在一起，上面長有許多細小菌核可做鑑定之依據。嚴重被害時，整塊綠豆田就如霜害一般。一夜間，可使整塊綠豆田之葉片被害而落光，因此它是夏季綠豆栽培不容忽視的主要病害。為能有效防治，除選用抗病品種外，應盡量避免在水稻後作種植綠豆(4,15)。

## 二、大豆銹病之研究(1978-1988年)

本病是由*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd所引起。它發生於東半球及西半球包括非洲，目前是熱帶及亞熱帶地區大豆生產的主要病害之一，可以導致10-80%的減產[27]。自2000年在南美洲大發生以來，每年造成極嚴重之為害，2004年美國南部亦首次發生大豆銹病為害[64]，因此大豆銹病對全世界大豆生產具有相當高之威脅。

1970年代，這個病害在東半球的資訊仍相當的欠缺，而且它對美國的大豆生產極具威脅性，因此1978年美國農部植物病害研究室與亞蔬中心簽定研究「大豆銹病流行病學」的合作計畫(USDA contract no.12-14-1001-1227)期間四年。 這個計劃是集中於偵測大豆銹病病勢之進展；評估產量損失；探討病原菌之生態；以及找尋抗病材料進而導入雜交育種之品系中，以開發抗病品種，提供農民種植而達到病害防治之目的[72, 74] 以下為本計劃之重要研究成果:

1. 大豆的生長對銹病進展之影響

幾個田間試驗結果發現大豆的成熟度[38] 與銹病進展之速率呈顯著的正相關，而環境與寄主基因型之影響，則非呈高度相關[2]，因此評估大豆品系之抗病性，亞蔬中心已研究出補整寄主成熟度差異之方法。最佳方法就是採取大豆相對的生育期為一個時間要素，分為0-100，再把種植到完全成熟之間的任何時間轉變成大豆生活史之百分比。最後以供試品系相同的百分比做為評估病害之標準。否則晚熟品系常會被評估是較為抗病[49, 73]。

2. 溫度及露水期間之長短對銹病進展的影響

大豆銹病菌夏胞子發芽的最適溫為15-25℃。當溫度在20-25℃時，病原菌侵入感染所需之最短露水期為6小時；但當溫度降為15-17°C時，則露水期須增長為8-10小時。當夜間溫度低於15°C或高於27℃時，則大大地降低病斑數或完全抑制病斑之進展。試驗結果亦證明溫度適當時 (18-26

℃)，每天葉面溼潤期間長達10小時，是銹病嚴重流行所必需的環境條件[29, 49, 73]。

3. 灌溉及下雨對銹病病勢進展之影響

在台灣的五個地點各三個季節之田間試驗獲知銹病的進展是隨著下雨的模式而變化。 雨量較均勻地分佈於一個季節的地區，其銹病之進展最為快速；在一個季節裡，雨量分佈不均勻的地區，銹病進展便相對地緩慢[72]。 低雨量的季節，銹病的發生便延遲，銹病進展的速率也降低。每天均下雨的地區，促進銹病較早發生而且也快速進展，所以雨量是大豆銹病流行進展的重要因子，它常被應用於預測銹病之嚴重度，而且比葉面濕度及溫度或兩者之交互作用更為重要[49,73]。

兩年的田間試驗亦發現噴灌處理區比溝灌區或未灌溉區的大豆銹病較早發生，病勢進展亦較為快速。同時亦獲知下雨對銹病之早期進展是必須的，即使是在噴灌處理區[49,73]。

4. 生理小種之鑑定

為了解大豆銹病菌的專一抗病性(specific resistance)，我們採集而且純化42株的銹病菌，它們分別在11個具專一性基因的鑑別寄主上包括PI200492, PI230971, PI239871A, PI239871B, PI459024, PI459025, TK#5, TN#4, Wayne，Ankur 及PI230970作用結果，根據紅褐斑(RB)，淡褐斑(TAN)及無病徵(0)之反應而鑑定出9 個生理小種[49]。大多數的這些銹病菌株具有多個毒力基因[73]，然而沒有一個大豆品系/種原具有一個以上的專一抗病基因，所以無法利用累加專一性抗病基因的方式而有效地防治大豆銹病。

5. 研發耐銹病的高級品系供病害防治

由於降低發病速率之抗病性(Rate-reducing resistance)在鑑定及量取上之困難，以及專一抗病性之無效，於是我們積極研發對銹病具有耐病性(Tolerance)而且較高的大豆產量之技術。 最後也發展出更佳之量取及瞭解部分抗病之技術，終於選拔了16 個耐病性相當高的大豆高級品系，

包括 SRE-B-15A, SRE-B-15B, SRE-B-15C, SRE-C-22A, SRE-C-56A, SRE-C-56B, SRE-C-56C, SRE-C-56D, SRE-C-56E, SRE-D-11A, SRE-D-11B, SRE-D-11C, SRE-D-14A, SRE-D-14B, SRE-D-14C 及 SRE-D-14D。這些品系不僅在台灣，而且在南非及美國之表現也顯著地比當地品種耐銹病(49,73)。

另外，包括12種多年生的野生大豆共294個種原經過3年的人工控制環境條件下之抗病篩選，結果篩選到23%種原為抗病，18%種原中度抗病，而58%是感病的。表現抗病的種原存在於7 個野生種包括*Glycine argyrea*, *G. canescens*, *G. clandestina*, *G. latifolia*, *G. microphylla*, *G. tabacina*, 及*G. tomentella* (49,72)，這些抗病種原均是目前大家積極從事大豆抗銹病育種的優良材料。

## 三、沙烏地阿拉伯王國的蔬菜病害之研究(1981.4-1983.4)

1980年經濟部農業司行文向亞蔬中心借調本人擔任中華民國派駐沙烏地阿拉伯王國農技團的植物保護技師。服務兩年期間主要工作職責如下:

1. 調查與鑑定沙國蔬菜、大田作物及果樹之病害發生與嚴重度
2. 篩選有效的蔬菜病害防治藥劑推薦給農民施用
3. 充實當地指導員的作物病害之知識，並指導他們病害鑑定之技術
4. 訓練農民認識作物病害及噴灑農藥之技巧
5. 拍攝全國各地作物病害之照片最後與虫害照片合編成「沙烏地阿拉伯王國作物病虫害及其防治」專刊，提供當地有關農業機構及農民參考，對該國病虫害之防治有莫大助益(57)。

## 四、番椒真菌性病害之研究(1987-2009)

亞蔬中心自1987年開始進行番椒之抗病育種計畫。當年除參考文獻，而且也向國外57位專家學者的問卷調查以及亞蔬專家們之觀察等獲得之結論乃是番椒的品種改良計畫必需加入疫病及炭疽病之抗病性(16)。因之，我們便啟動了以下一系列的研究以加速抗病育種之進行。

1. 炭疽病 (Anthracnose)

它是熱帶及亞熱帶，甚至溫帶地區番椒生產的主要限制因子之一，主要發生於高溫多濕的季節，尤其是常常下雨之環境。常造成採收前及採收後的果腐每年造成10-100%產量損失的嚴重為害。在台灣，它的發生集中於5月至10月。

1) 病原菌之鑑定

以往文獻中記載可引起本病之種類相當多樣，經過Hadden & Black (1989)的考證[47]，四個種的*Colletotrichum*， 包含*C. acutatum*, *C. capsici*, *C. gloeosporioides*及*C. coccodes*可引起番椒之炭疽病。我們幾年的鑑定結果並未發現 *C. coccodes*可感染番椒[18]。為能使種類之鑑定更為精準，於是採取了下列步驟: a)首先將菌株移入PDA平板上，於28℃定溫箱中培養，經5-7日後觀察並記錄其生長速率與菌落形態，並以光學顯微鏡檢查其分生孢子形態[70]；b)另外將菌株移入駱蛋白水解培養基，經4日後觀察並記錄其透明圈的形成與否及其大小；c) ITS-RFLP(核糖体基因間間隔區限制片段長度多形性)分析: 自PDA菌落挑取少量菌絲，進行DNA萃取，再利用引子對ITS4/ITS5，進行PCR增幅，再分別以限制酵素Alu I, RsaI，及BamHII (Takara Ltd.) 切割所增幅出的PCR產物，經瓊脂電泳後，照相存檔並記錄各菌株所形成之限制酵素圖譜進行分子鑑定[24,25]。

自台灣地區所蒐集之菌株經過上述鑑定技術與分析，2004年我們發現*C. boninense*是引起炭疽病的一個新的種[24,66]。從1994至2008年蒐集了613株炭疽病菌，經鑑定為*C. acutatum* 391株，*C. gloeosporioides* 105株，*C. boninense* 45株，及*C. capsici* 76株。可見*C. acutatum* 是台灣優勢的炭疽病種。

2) 病原菌之生長及生化特性

在PDA平板上，生長最適溫為28℃, 32℃則次之。四個種的炭疽病菌，以 *C. gloeosporioides* 的生長速度最為快速，*C. acutatum* 則最慢。

在駱蛋白水解培養基上培養，*C. acutatum* 的菌株均可產生大的透明圈，反應最強烈，而 *C. capsici* 卻均無產生，完全無反應[24]。

3) 病原菌對寄主組織之感染

本病原菌可為害尚未成熟的綠果及成熟的紅果，其抗病性各受不同基因所控制。但在紅果上的病斑發展比綠果較為快速，因此果實的成熟度影響病害的嚴重度而不影響病原菌之感染[17]。果實內炭水化合物含量與病斑大小呈高度正相關(0.83)，果實內的辣椒素(Capsaicin)含量及乾物質與果實的罹病率呈現負相關 (依次為 r=-0.43及 -0.45)[19]。另外，較特別的是病徵通常只出現於果實而已，寄主的其他部位組織卻是潛伏感染而不表現病徵。如果將寄主組織浸於殺草劑克蕪蹤(Paraquat)溶液 (1:40)1分鐘後，便容易把病原菌引誘出來[18]。利用此法獲知葉柄的罹病率及病害嚴重度與果實的發病率並非呈現密切相關。

炭疽病的病發數與果實的角質層及皮層的厚度有相關，角質層的厚度與孢子的產生呈顯著負相關 (r= -0.45)，也與病斑的擴展呈顯著地負相關 (r= -0.46)[60]。糖類及$CaCl_2$均顯著地促進 *C. gloeosporioides* 及 *C. capsici* 的分生孢子之發芽及附著器的形成[59]。

4) 單孢分離及菌種保存

自罹病果分離之菌株均經過單孢分離後，再以矽膠凝体 (silica gel)[80] 保存其孢子。每菌株保存於1支小試管內並放置於4℃定溫箱中，可保存數年之久而不致喪失病原性。

5) 抗病檢定技術之研發:

曾經測試過數種不同的人工接種果實之方式，結果病害的反應均不是很穩定，無法成功地評估寄主的抗感病。最後終於找到微量注射接種法 (Microinjection inoculation) 的效果最好[7,21]。此法乃是以一支注射器套上一支22 guage 的針頭，長約0.6-0.75厘米，每次定量接種1µl的分生孢子懸浮液 ($1\times10^5$分生孢子/ml) 於果實中間部位的皮層上。然後放置於25±℃，無光，100%RH的接種室內，以利病原菌的侵入感染。接種24小時後，相對濕度調為95-98%，以防止腐生雜菌在果蒂及接種部位繁殖。接種後第5天，若病斑直徑大於4厘米即為感病反應，否則

為抗病反應。目前全世界超過90%以上的番椒炭疽病研究者均採用此技術進行研究(7)。

6) 抗病種原之鑑定

經過人工接種*C. acutatum, C. capsici* 與*C. gloeosporioides* 以及田間抗性檢定，自數千個亞蔬番椒種原中鑑定屬於*Capsicum chinense* 的PBC879, 932, CO4418及4548，以及屬於 *C. baccatum* 的PBC80, 81及63為最抗病之種原(9,22)。尤其PBC932，80及81的紅果及綠果均表現高度的抗病。目前全世界研究番椒炭疽病的專家學者幾乎均利用這些優良種原在進行他們的研究。

7) 抗病高級品系之研發

與番椒育種組的密切合作，已經篩選了一些抗病高級品系，例如0038-995-15, 0237-7502及0438-8543-3已經推廣至世界番椒的產區，檢測它們的抗病持久性。

2. 疫病 (Phytophthora blight)

番椒疫病不僅是台灣，而且全亞洲番椒產區及世界熱帶、亞熱帶地區的一個很重要之番椒病害。在噴灌或排水不良的潮濕區域常造成嚴重的經濟損失(58,63)。本病是由*Phytophthora capsici* Leon. 所引起，它的寄主範圍除番椒外，尚包括番茄、胡瓜、洋香瓜、西洋葫蘆、茄子及南瓜等。*P. capsici* 是一個土傳病原菌，番椒的任何生育期及全株的番椒均容易遭受為害，甜椒比辣椒更為感病。雖然6個抗病種原，CM334, PI201234，PI201232，PI189550，PI201238 及 PI188478 早已被鑑定出來(17,26,51,55,71)，然而迄今尚無抗病穩定性高之品種推廣出來。在化學防治及生物防治方面也未見有重大進展，於是我們除了探討病原菌之特性外，更著重於抗病品種之選育。

1) 菌株的分離及保存:

新鮮的罹病組織在添加抗生素的V8平板上培養3天後，切取菌絲尖端，移植於10% V8平板上培養，以利挑取單一游走子分離培養於PDA斜面試管中。接著放置於28°C且每天照光24小時的定溫箱中生長，待

菌絲長滿整個斜面後，加入滅菌過的礦物油 (Trinity 400-5)，直到其覆蓋了全部菌絲而高於培養基1公分處，並保存於20℃，不照光的定溫箱，做為菌株之保存與利用[7]。

2) 菌株種類的精確鑑定

*P. capsici*在PDA平板上產生緻密且少有氣生菌絲的菌落，菌落型態呈現星狀或花瓣狀。然而在10% V8平板上，它產生稀疏且有氣生菌絲之菌落，形態為放射狀，少數菌絲呈現星狀。孢囊頂端具有增厚乳突狀構造，且有脫落性。脫落時，有一小段孢囊柄附著於基部[10]。

利用番椒疫病菌專一性引子對CAPFW (5’ - T T T A G T T G G G G G T C T T G T A C C - 3’) 及 CAPRV2 (5’ - T A C G G T T C A C C A G C C C A T C A - 3’) 進行聚合酶連鎖反應，以作為輔助鑑定的參考依據。結果發現 *P. capsici*與番椒疫病菌專一性引子對反應結果均能增幅出 595 bp 的條帶，而 *P. infestans*、*P. palmivora*、*P. nicotianae* 和 *Pythium aphanidermatum* 沒被增幅出任何條帶[10]。

3) 游走孢子接種源之製備與抗病檢定技術之研發

先將供試菌株培養於 10 % V8 培養基平板上，置於 28℃ 照光 24 小時的定溫箱中生長。待 5 天後，菌絲長滿整個平面，再以 9 公分 L 型玻棒塗抹而壓倒所有菌絲貼於培養基平板上，然後再放置於 28℃ 照光的定溫箱中培養 1天，便能刺激產生大量孢囊；再將18 ml 的無菌水加入已產生孢囊的培養基平板上，接著移至 4℃ 定溫箱中 1 小時，以促進游走孢子分化；最後取出置於 28℃ 定溫箱中 1 小時，促使游走孢子同時釋放，以便能收集大量游走孢子懸浮液；再調整游走孢子濃度為 $1\times10^5$ 游走子/ml作為接種源。它在接種前，最好能保存在放有碎冰的冰盒內[7,10]。

抗病檢定是以自動分注器將游走孢子懸浮液直接分注接種至穴盤(每格大小為 $4.2\times4.2\times5.5\ cm^3$)內植株的根部及培養土，每苗株各接種 5 ml。接種後的植株放置於日溫維持 25℃ 以上的溫室中，每天澆水兩次，以維持高溼度之培養土而有利於病勢之進展[7]。接種21天後，進行罹病度調查，發病等級分為 0 – 4 級，0 級代表沒有病徵； 4 級代表

莖部壞疽超過子葉或植株死亡。0 級為抗病植株，其餘均為感病反應[22]。另外試驗也證明株齡超過四週的苗株才能真正反應其抗感病。

4) 病原菌的病原型之鑑定[71]

Chung 和Black 兩氏於1997年報告，*P. capsici* 接種在四個鑑別寄主後，依寄主存活率來區分抗感病反應：0-69%存活率為感病，而70-100%存活率為抗病反應。因而當時將台灣的番椒疫病菌區分為三個病原型，包括病原型1、2及3。四個鑑別寄主中，Early Calwonder 對三個病原型皆為感病；PBC 137 只抗病原型1；PBC 602抗病原型1及2 (我們經過數次單株純化提升其抗病性，目前其對病原型2的抗病性已由50%提升至70%以上) PI201234 可抵抗三個並原型[21]。1999-2008年，自台灣各地蒐集的164菌株，病原型1有14株，病原型2有49株，病原型3有101株，因此病原型3為優勢族群[10]。

5) 病原菌配對型之鑑定及培養特性

2008年以前自台灣主要番椒產區蒐集的145株疫病菌株均為A1配對型。但2008年蒐集的53株疫病菌，有38株為A1配對型，其餘15株為A2配對型。A1配對型包含有病原型1、2和3；A2配對型只有病原型2和3。A1及A2配對型菌株在24及28℃的培養環境中生長最好。A1配對型在PDA及V8平板上的生長比A2配對型較為快速。A2配對型在28℃環境中，其游走孢子之產量顯著地高於A1配對型[10]。

6) 生體外對滅達樂之感受性

1987年自2008年蒐集的198株菌株對滅達樂之感受性的評估結果，163株(佔68.7%)為敏感，35株(佔17.7%)為中度敏感及27株(佔13.6%)為抗性。同時也發現2008年蒐集的新菌株，表現抗藥性的百分率比2008年以前的菌株為高；病原型1的菌株之抗藥性較強，而病原型2即3的菌株均對滅達樂較為敏感[10]。

7) 抗病遺傳特性之探討

與番椒育種組合作，利用PI201234當抗病父本，與四個園藝特性優良的品種，Pusa Jwala, FanFLC, Jatilaba及Phichit-1當母本分別進行四個組合雜交。它們的F2族群經人工接種病原型3的菌株以評估其抗感病

反應，再經chi-square分析結果，Pusa Jwala及FanFLC抗病性是由二組隱性基因所控制，而且具累加作用。然而其餘兩個雜交組合，它們F2族群的抗病性是由一個單顯性基因所控制。所以本病之抗病遺傳機制因所用親本的不同而有所差異。

8) 抗病種原之純化及選育抗病品系

七個已被報告[21]具抗病性之種原，CM334, PI188478,PI189550, PI201232, PI201234, PI201238及Fidel 針對台灣疫病菌，其抗病百分率並非100%，因此選用為抗病親本時，常常造成困擾。為解決此問題，我們接種每個抗原後，選取抗病單株純化3-5代，已將其抗病性提升至97-100%的存活率。由於葉部抗性與根莖部抗性分別受不同基因所控制，所以我們也經過兩代的單株選種純化而大大提升了葉部的抗病性[22]。上述高度抗病而且純化過之抗原提供抗病育種莫大的助益。

75個亞蔬高級番椒品系直接以病原型3菌株(Pc151) 進行抗病性檢定，共獲得6個高級品系：CCA 7049-1-1-1-1-1、CCA 7049-1-1-1-1-2、CCA 7049-1-1-1-2-1、CCA 7049-1-1-1-4-1、CCA 7049-4-1-2-2-3 和 CCA 7057-1-1-1-1-1，抗病百分率分別為75 %、87.5 %、83.3 %、70.8 %、87.5 % 和 70.8 %。從這 6 個高級品系各選取 4 棵存活植株進行單株純化，再分別收集種子，其子代 (F7) 再接種相同的菌株，其抗病百分率皆提高至 100 %。為確定其抗病的穩定性，其子代 (F8) 再接種一次，結果抗病百分率達 87.5 % 以上，其中 7 個子代 CCA7049-1-1-1-1-1/Pc151,09s2/09s1、CCA7049-1-1-1-1-2/Pc151,09s2/09s1、CCA7049-1-1-1-2-1/Pc151,09s1/09s1、CCA7049-1-1-1-2-1/Pc151,09s3/09s1、CCA7049-4-1-2-2-3/Pc151,09s1/09s1、CCA7049-4-1-2-2-3/Pc151,09s4/09s1 和 CCA 7057-1-1-1-1-1/Pc151,09s1/09s1，抗病百分率仍維持在 100 %[10]。這些抗病品系也具有良好的園藝特性，因此未來它們的潛力相當看好。

## 五、番茄真菌性病害之研究(1987-2009)

1. 黑黴病(Black leaf mold; Cercospora leaf mold)

本病由 *Pseudocercospora fuligena* (Roldan) Deighton (Syn. *Cercospora fuligena* Roldan)所引起。台灣每年 9 月中旬到翌年 3 月中旬，發生危害極為嚴重，減產可達 30%。雖然它廣泛地發生於世界各地，目前為中南半島番茄最嚴重之葉部病害之一，但有關的研究報導卻相當地欠缺，所以自 1990 年起開始積極研究此病害。番茄植株除果實外均容易被感染。迄今尚未有抗病品種推廣。

1) 病原菌的培養特性[6]

病原菌培養在 PDA、V8 及胡蘿蔔瓊脂上的生長極為緩慢，不產孢或產孢稀少。我們測試番茄葉抽出液混活燕麥抽出液之瓊脂培養基，不僅生長較為快速而且產孢也很豐富；經過 3 週的培養，每個 9 公分的培養平板，可有 $6\times10^4$ 分生孢子之產生，於是解決接種源之問題。

最適於菌絲生長的溫度為 26℃，34℃則不會生長。分生孢子的發芽大多數是從分生孢子基部及頂端之細胞產生而極少自中間的細胞發芽。分生孢子在相對濕度≤84.5% 時不發芽，91%時有一些孢子可發芽，100%時發芽率可達 96%。交互接種結果發現來自龍葵的菌株可感染番茄，番茄的菌株可感染龍葵[48]。

2) 寄主感染與分生孢子之存活[6]

每次番茄定植後，病害進展曲線下面積值與發生露水之天數及所蒐集之分生孢子總數均是顯着正相關。分生孢子在番茄葉片上經過 6 及 24 小時後，發芽率分別為 77 及 99%。分生孢子懸浮液接種在番茄苗株後，經 72 及 120 小時，發芽的分生孢子分別有 10%及 31%產生發芽管自氣孔侵入。接種後第 6 天可見細小病斑開始出現。第 11 天可見灰白色分生孢子柄自氣孔長出，第 12 天見成熟的分生孢子柄及分生孢子。罹病葉陰乾後，並以塑膠袋包封之並放置於 4、12、20℃及室溫下，仍有一些(<1%)分生孢子可發芽[76]。

3) 病勢發展對番茄產量之影響[6]

利用 12 種對黑黴病具不同程度抗病的番茄品系探討黑黴病病勢的進展對番茄產量之影響，結果發現屬於 *Solanum lycopersicum* 的品種

/品系的病勢進展比 *S. habrochaites*、 *S. pimpinellifolium* 及 *S. glandulosum* 之品系較為快速，而且 *S. habrochaites* 品系的病勢進展曲線下面積值(AUDPC) 及每平方公分葉面積所產生之分生孢子量均顯著低於其他品系。因此每平方公分葉面積產生的分生孢子量與 AUDPC 值呈現正相關。黑黴病引起所有 *S. lycopersicum* 的供試品系顯著地減產，但卻未對其他野生種的供試品系造成減產。試驗結果亦顯示番茄產量損失百分率與黑黴病的 AUDPC 值及每單位葉面積產生分生孢子量呈現正相關 ($P<0.01$，依次為 $r^2 = 0.93$ 及 0.84)[75] 之關係。

4) 茄科植物對番茄黑黴病之抗感病反應[6]

全部共有 5 屬的不同茄科植物 (*Solanaceons* spp.) 包含了 26 種 137 個茄科供試植物在人工接種室及田間環境下經人工接種黑黴病菌，以測定供試植物的抗感病反應。結果鑑定 5 個番茄種 (*S. Chilense*、*S. chmielewskii*、*S. glandulosum*、*S. peruvianum* 及 *S. pennellii*)， 3 個茄子種類(*S. aethiopicum*、 *S. indicum* 及 *S. macrocarpon*) 及 4 個番椒種 (*Capsicum annuum*、*C. chinense*、 *C. baccatum* 及 *C. frutescens*)為 *P. fuligena* 的新寄主。另外又檢定 541 個野生番椒種原或它們與栽培種番茄之雜交種，結果發現以 *S. habrochaites* 包含最多的抗病種原數，其中以 PI134417 及 134418 的 AUDPC 值最低，抗病性最高[79]。

5) 番茄抗黑黴病的遺傳特性[6]

利用四種雜交組合進行這項研究，這四個雜交組合是由二個抗病品系(即 *S. habrochaites* 的 PI134417 及 *S. lycopersicum* 的 PI254655) 及四個罹病品系(即 CL657BC1F2-267-0-3-12-7、CL143-0-10-3-0-1-10、CCL698BC1F2-358-4-13 及 CL5915-93$_{D4}$-1-0-3)所組成。每個雜交的 6 個世代 P1、P2、F1、F2、BC1F1 及 BC1F2 的族群對黑黴病的反應均經測試評估。其中三個組合的 F2 世代中，抗病：感病比例資料的卡方分佈測定($X^2$-square test)結果，獲知非常適合 1R：15S 的分離基因比。同時測定 BC1F2 子代測定結果，獲知三個雜交組合也適合 1R：63S 的分離基因比。從這些分離比的資料，可了解二個抗病親本 PI134417 及 PI254655 的抗病性由兩個隱性基因所控制，而且相互作用[77]。

6) 黑黴病之化學藥劑防治[6]

本病害的化學藥劑防治，除Yamada 氏報告之波爾多液對分生孢子發芽有很強的殺菌作用[81]外，近有Quimio氏報告Mancozeb 可防治黑黴病[62]。為能有效防治病害，當年我們進行四種藥劑，包括5%三泰分可濕性粉劑，10%農治可濕性粉劑，50%撲克拉錳可濕性粉劑及50%免賴得可濕性粉劑+80%鋅錳乃浦可濕性粉劑的田間篩選。結果發現10%農治可濕性粉劑的防治效果最好，其葉面積感病百分率顯著地低於其他藥劑處理[75]

2. 番茄萎凋病

本病由 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Synder & Hans 所引起，為許多番茄產區常見的土傳真菌性病害。潛伏於土壤中的病原菌侵入寄主根部後，沿維管束往上進展，常造成葉片由下往上黃化。初期病徵常呈現單側葉片黃化，嚴重時全株萎凋死亡[8]，是番茄生產的主要限制因子之一。根據該病原在不同番茄鑑別品種的病害反應，可區分為 Race 1，Race 2 及 Race 3。 其中以 Race1 及 2 分佈較為普遍，發生於世界上大部分的番茄產區。Race3 於 1978 年首次報導發生於澳洲後[45]，已陸續在美國許多州及墨西哥等地發現[28,36,37,41]。近年來 Race3 亦出現於日本。Race3 的分佈較侷限於某些地區。

本病於 1982 年在高雄縣彌陀鄉首次發現[8]，爾後除偶見少數文獻記載台灣菌株[36,37] 外，迄今並無萎凋病菌族群的研究報告。為能有效解決病害的嚴重為害，我們除積極探討病原菌相及族群結構外，並參與抗病育種而獲致以下之成果：

1) 單孢分離與菌株保存

自罹病組織分離的菌株，經單胞分離後，再以矽膠凝體保存其分生孢子。每菌株保存於一支小試管內並置於 4℃ 定溫箱中。自 2002 年至 2007 年共保存 196 個萎凋病菌株。

2) 研發抗病篩選技術

為配合抗病育種的大量材料之檢定，低成本而有效率之大量篩選

技術是必備的，於是我們研發了苗期檢定技術。自泥炭土拔起株齡兩週的幼苗，將其根部浸於病原菌菌落與 PDA 平板打碎的菌泥中 5 分鐘，然後移栽於裝有泥炭土與河沙 1：1(V/V)混合的穴盤中，最後放置於日溫≧25℃玻璃溫室中。接種三週後，根據 0-3 等級(0=無病徵，3=植株枯萎或死亡)，逐株調查其罹病度，除 0 級為抗病反應外，其餘皆為感病反應[7]。

3) 生理小種之鑑定

利用四個鑑別寄主：Bonny Best(不具抗病性)、UC82-L(抗 Race 1)、FlaMH-1(抗 Race 1&2)及 IR-3(抗 Race1、2 及 3)，檢測從台灣各地蒐集的 196 個菌株之抗感病反應，鑑定 194 個菌株為 Race2，只有 2 個菌株為 Race1。其中 Race2 已打破許多商業品種的抗病性。

4) 萎凋病菌族群結構與種內分群[65,67]

a. 融合親合性檢測(Vegetative compatibility groups)

採用 Correll 等人的的方法[35]，利用添加氯酸的培養基篩選無法利用硝酸態的突變株，經鑑定後保存於 nitI 與 nitM 類別之變異株，再進行菌株間融合親合性測試。歸類為同一融合群的菌株其突變株 nitI 與 nitM 可經菌絲融合回復為野生型外表形，約 1-2 週後可在基礎培養基(minimal medium)上產生濃密的氣生菌絲，以茲鑑別是否為同一種融合群。測試結果，絕大部分的台灣菌株都屬於融合群 TW1。

b. 核糖體 DNA 基因內間隔區之基因型鑑定(IGS-RFLP haplotyping)

利用 PCR-RFLP 技術，分析菌株之核糖體 DNA 基因內間隔區(Intergenic spacer)之多形性。首先培養供試菌株於 PDA 平板並收集新鮮菌絲，進行 DNA 萃取，再以訂製之特定序列引子增幅 DNA 片段：CLN12:5’-CTGAACGCCTC TAAGTCAG-3’；CNS1:5’-GAGACAAGCATATGACTACTG-3’，再分別以限制切割酵素 EcoRI、RasI 及 HaeⅡ切割增幅出的片段。經瓊脂電泳後，照相並記錄各菌株所形成之限制酵素圖譜，比對 Cai 等人[28] 研發的歸類方法，進行 IGS 基因型鑑定。測試分析 167 株菌株，162 菌株屬於同一種 IGS 基因型，即利用電泳分析大小約 2.6kb 的 PCR 片段的三種限

制酵素圖譜。EcoRI 切割的 DNA 條帶為 A 型，RsaI 切割的 DNA 條帶為 B 型，HaeⅡ切割的 DNA 條帶為 A 型。另有 5 株菌株同屬 BCC IGS 基因型。資料分析顯示大多數供試菌株屬於融合群 TW1 及 ABA IGS 基因型，它為優勢族群，所以目前的族群結構相當單純。

5) 抗病種原之鑑定

許多野生番茄種原已被篩選出不少的材料抗 Race1 而加以利用[42]。以台灣菌株的 Race1 及 2 檢測證實 4 個番茄品種：BTN472、Fla MH-1、Rodade 及 UC2-4A 各擁有抗病基因 I1 及 I2，另一個品種 IR-3 則具有抗病基因 I1, I2 及 I3。

6) 抗萎凋病之遺傳特性

試驗證實對三個生理小種之抗病性是分別由三對獨立的單一顯性基因所控制。

7) 抗病品系之選育

與番茄育種組密切合作執行抗病育種計畫，成功地將抗病基因轉移至栽培種而選育了許多抗 Race1 及 2 的鮮食大果番茄、櫻桃番茄及加工番茄品系；提供全世界的科研者充分利用，造福農民[33]。

8) 非農藥防治

因病原菌是由寄主根部侵入感染為害，所以利用嫁接技術防治病害是可行的。選取抗 Race2 的品種當根砧，如 Water、Fla MH-1、BF Okitsu、CRA66 及 Hawaii 7996，田間測試結果證實均能顯著降低病害之發生為害。

3. 番茄晚疫病 (Late blight)

本病是由 *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary 所引起，是全世界番茄與馬鈴薯的一個毀滅性的病害，尤其是低溫潮濕的環境，包括熱帶及亞熱帶地區。若無適當管理，它可造成 30-100%產量損失。近年來由於病原性極強的新族群在世界各地的漫延造成病害嚴重流行[39,40,69]。自 1998 年起，台灣的番茄與馬鈴薯亦受晚疫病嚴重危害[11,12,32,54]。此乃因 1997-1998 年間新基因型的晚疫病菌(US-11)隨著食用馬鈴薯的進口而進

入台灣。它不僅病原性較強且對農民慣用的有效殺菌劑滅達樂具強抗性，因此常猖獗危害[23,32,78]。

由於亞蔬中心的非洲區域中心設於坦尚尼亞的 Arusha，是晚疫病嚴重發生的一處高冷地，因而促使亞蔬本部加強番茄抗晚疫病之育種，我們也就擔負了這個重責大任。自 1991 年起，開始蒐集台灣的晚疫病菌株，分析其表現型及基因型之特性，以監測每年病原菌族群之改變，並研發有效率的抗病育種策略。我們長期的監視已獲致下述成果：

1) 病原菌表現型之特性[32]

a. 寄主專一性：

1998 年以前的菌株具有寄主專一性，但 1998 年以後的菌株除極少數的 US-1 菌株外，均無寄主專一性，也就是來自番茄的菌株可以感染馬鈴薯，馬鈴薯的菌株也可感染番茄。

b. 生理小種之鑑定[31]：

利用我們研發的六個鑑別寄主，包括 TS19(*Ph*$^+$)，TS33(*Ph*-1)，W.Va.700(*Ph*-2)，CLN2037(*Ph*-3)，L3708(*Ph*-3,4)及 LA1033(*Ph*-5)，試驗證實它們各具有不同的抗病基因，可檢測供試菌株對它們的抗感病反應而鑑定小種之類別。1994 年只鑑定 Race T1,2，它可打破具有抗病基因 *Ph*-1 及 *Ph*-2 的商業品種之抗性。隨後每年幾乎都有新的小種陸續出現。2002-2008 年的資料顯示，2002 年優勢小種為 Race T1,2；2004-2005 年轉變成 Race T1,2,3；2006-2008 年又轉變成 Race T1,2,3,5，證明小種的變異相當快速。

c. 配對型之鑑定：

自 1991-2008 年蒐集的 795 株菌株，均經過與標準株(*P. parasitica*)的 A1 配對型(P991)及 A2 配對型(P731)進行配對，結果全部皆為 A1 配對型。

d. 生體外對滅達樂之感受性：

1998 年以前的菌株約 50% 對滅達殺菌劑敏感，另 50% 屬於中等。然而 1998 年以後的菌株，每年全部菌株或絕大多數菌株均表現抗滅達樂，僅舊基因型的菌株是例外。

2) 病原菌基因型之特性[32]

每個供試菌株均經過三項分析：

a) 同功異構酵素圖譜分析[44]：

1998 年以前的菌株，*GPi* 皆為 86/100，*Pep* 為 92/100 或 100/100；但 1998 年以後的菌株，*GPi* 為 100/100/111，*Pep* 為 100/100，有很大差異。

b) 粒線體去氧核醣核酸基因型分析[46]：

1998 年以前的菌株皆為 Ib，1998 年以後的菌株除極少數為 Ib (US-1) 外，其餘的菌株均為 IIb，表現有很大差異。

c) 基因體指紋圖譜分析表現[43]：

利用 RG57 探針分析結果，1998 年以前的 28 株菌株皆為舊基因型 US-1；1998 年以後的菌株，除了 8 個菌株為 US-1 外，483 株為新基因型 US-11 及 187 株為 US-11 的突變株，(包含 US-11.1，US-11.2，US-11.3 及 US-11.4)。目前 US-11 基因型的菌系已完全取代 US-1 基因型，這顯示台灣地區晚疫病菌即使未經過有性繁殖，依然以極快的速度發生變異。

3) 菌株之分離與保存

罹病組織經自來水沖洗後，放置於墊有潮濕濾紙的培養皿內，在移置於 20℃ 定溫箱 1-4 天，促進充分產孢。當菌絲長出且產孢後，利用移植針的針端挑取小塊的培養基沾取新鮮孢囊後，再移植加有抗生素，Ampicillin (100mg/l)、 Nystatin (100mg/l)及 Rifamipicin (50mg/l)[30] 的裸麥 A 瓊脂平板。菌絲長出後再移取菌絲尖端到裸麥 A 瓊脂平板。最後分離的菌株移植到裸麥 A 的斜面試管內。當菌落長滿斜面後，加入滅過菌之礦物油直到蓋過所有的菌絲而且高過培養基 1 公分，再保存於 16-20℃ 的定溫箱中。另外， 一部份菌絲也移入裝有滅過菌的裸麥顆粒及無菌水之試管內，亦保存於 16-20℃ 的定溫箱當備份。至於罹病組織經 1%次氯酸鈉表面消毒後，進行組織分離，培養於裸麥 A 瓊脂加抗生素之培養基也是可行的。

4) 抗病檢定技術之研發[7]

株齡≥5 週的番茄苗株移入人工接種室(20±2℃)，噴霧接種游走孢子及孢囊懸浮液 ($5\times10^4$ 孢囊/ml)。接種後 24 小時內維持 100%RH，無光照，以利游走孢子發芽與侵入寄主。接種 24 小時後，調整為 60-95%RH，每天光照 14 小時。接種後第 7 天及第 10 天分別調查每單株罹病度。病害等級分為 0-6 級，0=無病徵；6=90%以上葉面感染或死亡[20,21]。然後求取每供試品系罹病度的平均值，罹病度 0-2.5 屬於抗病，2.6-4.5 屬於中抗，4.6-6.0 屬於感病。

5) 抗病種原之鑑定

1991 年自 795 種的野生番茄種原之抗病篩選中，四種高度抗病之種原被鑑定出來：L3707 及 3708=PI365957 屬於 *S. pimpinellifolium*，L3683=PI365904 及 L3684=PI365905 屬於 *S. habrochaites*。它們不僅人工接種及田間檢測均表現抗病，而且送至印尼、泰國、尼泊爾、菲律賓、馬拉威、坦尚尼亞及美國測試，亦均表現高度抗病。

另外，自 8 個種的野生番茄共 308 個種原中抗病篩選到 41 個種原表現抗 Race T1,2 及 Race T1,2,3，以上這些種原更加充實了抗病育種的材料。

6) 抗晚疫病的遺傳特性

利用高度抗病的兩個野生抗原，L3708 及 L3684，進行兩個組合的種間雜交：CLN657BC1F2-274-0-15-4 × L3708 及 Money Maker × L3684，分別產生 F1 及 F2 族群，再進行回交產生 BC1F1，並且自交產生 BC1F2。根據上述族群的資料分析結果，得知這兩個抗原的的抗病性是部分顯性且受單基因控制[20,21,22]。

7) 抗晚疫病品系之研發

利用具優良園藝性狀的 Money Maker 與高度抗病的抗原 L3708 行種間雜交，產生的 F1 再回交到 Money Maker，產生 BC1F1 世代，選取抗病株 (抗 Race T1,2) 回交到 CLN657-285，產生 BC2F1 世代，再選取抗病株回交到 CLN657-285，產生 BC3F1 世代，即 CLN2037。隨後，其自交後的每個世代均經過抗病檢定直到 BC3F6 世代為止。最後

總共有 9 個品系被選取而定名為 CLN2037A-I。這些品系均具有高度抗 Race T1,2 的專一抗病性，目前他們已被廣泛地推廣於全世界，可說是對番茄抗晚疫病的一大貢獻[22]。

另外，為著能提供台灣消費者需求的一點紅品種，又以 CLN2037 當抗病父本與 L4783 (大果番茄，感病) 當母本雜交，產生雜交 F1，經選拔 FMTT791，792，793，794 及 795 等雜交一代，其中 FMTT795 已於 2005 年 12 月通過審查命名為「花蓮亞蔬 17 號」。已由種苗繁殖場負責繁殖種子，提供農民種植，以防治晚疫病之危害。

## 結　　語

這三十多年來，我幾乎都專注於蔬菜真菌性病害之研究，探討的作物包括綠豆、大豆、結球白菜、甘藷、番椒、番茄、茄子及胡瓜等作物。尤其最近幾年，對於番椒炭疽病與疫病、番茄的黑黴病、萎凋病與晚疫病等病原菌的族群結構、族群之變換以及利用寄主抗病性選育抗病品系進行了相當多的研究，除了建立台灣有關病原菌族群的基本資料外，也因為對病原菌族群變化的瞭解而有助於抗病育種策略之訂定與抗病穩定性高的品系之研發。由於長期服務於亞蔬中心，參與團隊合作之研究，充分體會其可貴之處，因此我除衷心感激真菌組同仁的各項協助外，我也要感謝育種組、種原組及生物科技組的密切合作，方能有上述成果分享大家。這種團隊合作之精神，足供其他科研機構參考。

參與亞蔬中心多年的國際合作計畫而與開發中國家的專家學者多年的聯繫與合作結果，感觸良多。不過，倒是增廣見聞不少，而且也瞭解到台灣尚未發生之作物病害在其他國家嚴重發生為害之狀況，足為警惕。多年培訓了不少的國外學員，遍及中國、南韓、東南亞、南亞、非洲及南美洲等等，偶有聯繫而提供他們生活之點滴，藉此享受異國生活之情趣。甚至應邀遠赴緬甸及北韓進行培訓，藉機瞭解共產制度下的農業發展情況及實地瞭解農民遭遇之病害問題及解決之道。往往提供簡單之技術，卻可達到病害的有效防治。

我們研發的技術與材料，均是分享與世界各地的科研者，例如番椒炭疽病的病原種類之鑑定、抗病種原之尋找及抗病篩選技術之開發，早已分享全世界。目前幾乎超過 95%的專家學者均在享用這些技術與材料。因此他們在 2007 年的第一屆國際番椒炭疽病研討會（南韓）上，公開贊揚亞蔬嘉惠於他們之偉大貢獻，當時心中感到無比的喜悅。

承蒙指導教授　謝文瑞老師的啟發鼓勵及懇切指導，使得博士論文得以順利完成，特此謹敬上最高之敬意及謝忱。植病系全體師長的諄諄教誨，感激不盡，終生難忘。其次，這些年來，農委會國合處及動植物防檢局、美國農業部、德國 BMZ 及澳大利亞 ACIAR 計畫的贊助研究經費，一併致上無限熱忱。

## 引用文獻

1. 王添成、楊又迪。1975。綠豆葉枯病：台灣綠豆之一種新病害。植物保護學會會刊 17(4):8-9（摘要）。
2. 王添成。Tschanz A.T. 1980. 大豆連續之種植期與銹病罹病性關係。植物保護學會會刊 22(4):438(摘要)。
3. 王添成。1984。 台灣綠豆病害簡介（上）。農藥世界 13:13-15。
4. 王添成。1984。台灣綠豆病害簡介（下）。農藥世界 14:23-24。
5. 王添成。1987。綠豆葉斑病。興農雜誌 230:41-43。
6. 王添成。1996。番茄黑黴病菌培養特性及寄主抗病性。博士論文。國立中興大學植物病理學研究所。台中。台灣。178pp.
7. 王添成。1998。蔬菜病害抗病篩選技術。蔬菜育種技術研習會專刊。台灣省農業試驗所，台中縣，台灣省。P.97-106。
8. 黃振文、孫守恭。1982。台灣番茄萎凋病。植保會刊　24:265-270。
9. 陳盈如、張碧芳、王添成。2006。抗炭疽病(*Colletotrichum acutatum*) 辣椒種原 AVRDC PBC81(*Capsicum baccatum*) 及 PBC932(*C. chinense*)之抗病性初探。植病會刊 15(4):295-296。
10. 陳昭容。2009. 台灣地區番椒疫病菌(*Phytophthora capsici*)之生物特性暨

抗病品種之篩選. 碩士論文。台中。台灣。90pp.

11. Ann. P.J., and Chang, T.T. 2002. Why late blight of potato and tomato dramatically breaking out in Taiwan at the end of 1997. in: Proceedings of Information of Plant Pests, Diseases and Control strategies Workshop, Wufeng, Taichung, TARI, 2000, P.115-126.
12. Ann. P.J., Chang, T.T., and Chern, L.L. 1998. Mating type distribution and pathogenicity of *Phytophthora infestans* in Taiwan. Bot. Bull. Acad. Sin. 39:33-37.
13. AVRDC.1975. Annual Report 1974. Mungbean. AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan. P.34-44
14. AVRDC. 1977. AVRDC Progress Report 1976. Mungbean. AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan. P.45-47.
15. AVRDC. 1978. AVRDC Mungbean Report 1976. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.37.
16. AVRDC. 1990. 1987 Progress Report. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.81-86
17. AVRDC. 1990. 1988 Progress Report. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.66-72.
18. AVRDC. 1990. 1989 Progress Report. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.64-72.
19. AVRDC. 1993. 1992 Progress Report. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.125-129.
20. AVRDC. 1995. AVRDC 1994 Progress Report. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.194-197.
21. AVRDC. 1998. AVRDC Report 1997. AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan. P.53-57; P.83.
22. AVRDC. 1999. AVRDC Report 1998. AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan. P.25-30.
23. AVRDC. 2000. AVRDC Report 1999. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.10-11.
24. AVRDC.2007.AVRDC Report 2004. Shanhua, Tainan, Taiwan. P.52-55
25. AVRDC. 2009. AVRDC Report 2005. Shanhua, Tainan, Taiwan.
26. Barksdale, T.H., Papavizas, G.S., and Johnston, S.A. 1984. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici.* Plant

Dis. 68:506-509.

27. Bromfield, K. R. 1984. Soybean rust. Monograph No.11, The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. U.S.A.
28. Cai, G., Gale, R., Schneider, R.W., Kistler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S., and Miyao, E.M. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. Phytopathology 98:1014-1022.
29. Casey, P.S. 1981. The epidemiology of soybean rust-*Phakopsora pachyrhizi* Syd. Soybean Rust Newsl. 4:2
30. Caten, C.E., and Jinks, J.L. 1968. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans.* I. Cultural variation. Can. J. Bot. 46:329-348.
31. Chen, C.H., and Wang, T.C. 2005. Race identification of *Phytophthora infestans* isolates collected from Taiwan during 2004 to 2005. Plant Pathology Bulletin 14(4):283 (Abstr,).
32. Chen, C.H., Wang, T.C., Black, L.L., Sheu, Z.M., Perez, F., and Deahl, K. 2009. Phenotypic and genotypic changes in the *Phytophthora infestans* population in Taiwan-1991 to 2006. J. Phytopathol. 157:248-255.
33. Chen, J.T., Hanson , P.T., Kuo, C.G., and Opena, R.T. 2003. Genetic improvement of summer fresh market tomatoes. J. Agri. Assoc. China 4(1):83-102(in Chinese).
34. Chung, W.S., and Black L.L. 1997. Evidence for pepper pathotypes in *Phytophthora capsici* in Taiwan. Phytopathology 87:s19.
35. Correll, J.C., Klittich, C.J.R., and Leslie, J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology 77:1640-1646.
36. Elias, K.S., and Schneider, R.W. 1991. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Phytopathology 81:159-162.
37. Elias, K.S., and Schneider, R.W. 1992. Genetic diversity within and among races and vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* as determined by isozyme analysis. Phytopathology

81:1421-1427.

38. Fehr, W.R., and Caviness, C.E. 1977. Stages of soybean development. Special Report 80. Iowa State Univ., Ames, Iowa P.1-12
39. Fry, W.E., and Goodwin, S.B. 1997. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. Plant Dis. 81:1349-1357.
40. Fry. W.E., Goodwin, S.B., Dyer, A.T., et al. 1993. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*, chronology, pathways, and implications. Plant Dis. 77:653-661.
41. Gale, L.R., Katan, T., and Kistler, H.C. 2003. The Probable center of origin of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* VCG0033. Plant Dis. 81:1433-1438.
42. Gerdemann, J.W., and Finley, A.M. 1951. The pathogenicity of race 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici.* Phytopathology 41:238-244.
43. Goodwin, S.B., Drenth, A., and Fry, W.E. 1992. Cloning and genetic analysis of two highly polymorphic moderately repetitive nuclear DNAs from *Phytophthora infestans*. Curr. Genetic 22:107-115.
44. Goodwin, S.B., Schneider, R.E., and Fry, W.E. 1995. Use of Cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans*. Plant Dis. 79:1181-1185.
45. Grattidge, R. 1982. Occurrence of a third race of Fusarium wilt of tomatoes in Queensland. Plant Dis. 66:165-166.
46. Griffith, G.W., and Shaw, D.S. 1998. Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: Four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from host lesions. Applied and Environmental Microbiology. Oct:4007-4014.
47. Hadden, J.F., and Black, L. L. 1989. Anthracnose of pepper caused by *Colletotrichum* spp. Tomato and pepper production in the tropics P.189-199.
48. Hartman, G.L., Chen, S.C., and Wang, T.C. 1991. Cultural studies and pathogenicity of *Pseudocercospora fuligena*, the causal agent of black leaf

mold of tomato. Plant Dis. 75:1060-1063.

49. Hartman, G.L., Wang, T.C., and Hymowitz, T. 1992. Sources of resistance to soybean rust in perennial *Glycine* species. Plant Dis. 76:396-399.
50. Hartman, G. L., Wang, T.C., and Kim, D. 1993. Field evaluation of mungbeans for resistance to Cercospora leaf spot and powdery mildew. Int'l Journal of Pest Management 39 (4):418-421.
51. Hwang, B.K., Kim, Y.J., and Kim, C.H. 1996. Differential interactions of *Phytophthora capsici* isolates with genotypes at various plant growth stages. European Jurnal of Plant Pathology 102:311-316.
52. I-pin C. Mew., T.C. Wang., and T.M. Mew. 1975. Inoculum production and evaluation of mungbean varieties for resistance to *Cercospora canescens*. Plant Dis. Reptr. 59:397-401.
53. Ilag, L.L. 1978. Fungal disease of mungbean in the Philippines. In R. Cowell(ed.) Mungbean: Proceedings of the First International Symposium(Shanhua, Tainan: AVRDC), P. 154-156.
54. Jyan, M.H., Ann, P.J., Tsai, J.N., Hsih, S.D., Chang, T.T., and Liou, R.F. 2004. Recent occurrence of *Phytophthora infestans* US-11 as the cause of severe late blight on potato and tomato in Taiwan. Can. J. Plant Pathol. 26:188-192.
55. Kimble, K.A., and Grogan, R.G. 1960. Resistance to Phytophthora root rot in peppers. Plant Dis. 44:872-873.
56. Legaspi, B.M., Catipon, E.M., and Hubell, J.M. 1978. AVRDC Philippines outreach programme mungbean studies. In R. Cowell(ed.) Mungbean: Proceedings of the first International Symposium P.220-223.
57. Lin, A.C. 1986. Crop pests and their control. Chinese Agricultural Technical Mission, Ministry of Agriculture and Water, Kingdom of Saudi Arabia. 101pp.
58. Lu, L.S., Kao, C.W. 1981. Pepper blight induced by *Phytophthora capsici*. Plant Protection Bulletin 23:59-66(in Chinese).

59. Manandhar, J.B., Hartman, G.L., and Wang T.C. 1995. Conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum capsici* and *C. gloeosporioides* isolates from pepper. Plant Dis. 76:361-366.
60. Manandhar, J.B., Hartman, G.L., and Wang, T.C. 1995. Anthracnose development on pepper fruits inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant dis. 79:380-383.
61. Quebral, F. C. 1974. Some diseases of legume (mungo, peanut and soybean) in the Philippines and their control. In IRRI Multiple Cropping Training course, vol.4. 7p.
62. Quimio, A.J. 1985. Control of tomato foliar diseases with chlorathalonil, Mancozeb, Cupric hydroxide, and Mancozeb + Cupric hydroxide. Philip. Phytopathol. 21:15-16.
63. Ristaino, J.B., and Johnston, S.A. 1999. Ecologically based approaches to management of Phytophthora blight on bell pepper. Plant Dis. 83:1080-1089.
64. Schneider, R.W., Hollier, C.A., Whitam, H.K., Palm, M.E., Mckemy, J.M., Hernandez, J.R., Levy, L., and De. Vries-Paterson, R. 2005. First report of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* in the continental United states. Plant Dis. 86:774.
65. Sheu, Z.M., and Wang, T.C. 2005. Characterization of Taiwan isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycoperisici* based on race determination, vegetative compatibility and rDNA IGS-RFLP haplotyping. Plant Pathology Bulletin 14(4):282-283(Abstr.).
66. Sheu, Z.M., and Wang, T.C. 2006. First report of *Colletotrichum boninense* as causal agent of pepper anthracnose in Taiwan. Plant Pathology Bulletin 15(4):294-295(Abstr.)
67. Sheu, Z.M., amd Wang, T.C. 2008. Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* collected in Taiwan from 2005 to 2007. Plant Pathology Bulletin 17(1):71-72.

68. Soria, J.A., and Quebral, F. C. 1973. Occurrence and development of powdery mildew on mungo. Philippine Phytopathology 57:153-177.
69. Spielman L.J., Drenth, A., Davidase, L.C. et al. 1991. A second worldwide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*. Plant Pathol. 40:422-430.
70. Sutton, B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. in:*Colletotrichum:* Biology, Pathology and Control (ed. J.A. Bailey & M.J. Jeger). CAB International: Wallingford, Oxon, U.K.
71. Sy, O., Steiner, R., and Bosland, P.W. 2008. Recombinant inbred line differential identifies race-specific resistance to Phytophthora root rot in *Capsicum annuum.* Phytopathology 98:867-870.
72. Tschanz, A.T. 1982. Soybean rust epidemiology (Final report). AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan. 157pp.
73. Tschanz, A.T., Wang, T.C., and Tsai, B.Y. 1985. Recent advances in soybean rust research at AVRDC. in: Soybeans in tropical and subtropical cropping system. ed. Shanmugasundaram and E.W.Sulzberger, AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan. P.237-245.
74. Wang, T.C., and Hartman G.L. 1992. Epidemiology of soybean rust and breeding for host resistance. Oblight parasitic diseases workshop P.39-54.
75. Wang, T.C., Black, L.L., and Hsieh, W.H. 1994. Black leaf mold development on *Lycopersion* spp. and associated yield losses. Plant Pathology Bulletin 3:181-185.
76. Wang, T.C., Black, L.L., and Hsieh W.H. 1995. Seasonal variation of tomato black mold and survival of *Pseudocercospora fuligena.* Plant Pathology Bulletin 4(4):208(abstr.)
77. Wang, T.C., Black, L.L., Hsieh, W.H., and Hanson, P.M. 1995. Inheritance of black leaf mold resistance in tomato. Euphytica 86:111-115.
78. Wang, T.C., Chen, C.H., Deahl, K.L., and Perez, F. 2006. The population shift of *Phytophthora infestans* in Taiwan during 1991 to 2006. Plant

Pathology Bulletin 15(4): 290-291(Abstr.).

79. Wang, T.C., Hartman, G.L., Hsieh, W.H., and Black, L.L. 1995. Reactions of Solanaceous species to *Pseudocerospora fuligena* the causal agent of tomato black leaf mold. Plant Dis. 79:661-665.
80. Wilson C.H. 1986. FGSC culture preservation methods. Fungal genetics newsletter 33:47-48.
81. Yamada, S. 1951. New disease of tomato (*L. esculentum* Mill.) caused by *Cercospora* sp. Ann. Phytopathol. Soc. Japan. 15:13-18.

# ABSTRACT

## Vegetable Diseases Associated With My Research Life

Tien-cheng Wang
AVRDC-The World Vegetable Center, P.O.Box 74199, Shanhua, Tainan, Taiwan.
(Retired on 2nd, September, 2009)

I have worked on vegetable diseases at AVRDC-The World Vegetable Center for 35 years. My work focused on mungbean, soybean, peppers, and tomato, and emphasized on the understanding the population structure of major fungal pathogens, the establishment of resistance screening technology and the development of resistant lines. Firstly, one of the first accomplishments was the induction of abundant sporulation of *Cercospora canescens* associated with mungbean Cercospora leaf spot by using carrot leaf juice mixed with oatmeal extract and agar. Ten mungbean germplasm accessions resistance to this pathogen were identified. Eighteen accessions highly resistant to powdery mildew were selected from screening near 4,000 mungbean accessions. Several resistant lines were developed after hybridization with these resistance sources. These lines have induced “the Asian Mungbean Revolution”. Studies on the soybean rust epidemiology led to the understanding of the effects of weather factors, temperature, dew period, irrigation and precipitation on the rust development. Screening techniques for rust-tolerance were developed, which resulted in the development of 16 highly rust-tolerant lines. By using IGS-RFLP haplotyping technique and phenotype characteristics, *Colletotrichum acutatum*, *C. boninense, C. capsici* and *C. gloeosporioides* were identified as associated pepper anthracnose in Taiwan with *C. acutatum* the predominant species. Recently, a new pathotype with higher pathogeneicity has appeared in Taiwan. The resistance of ripe fruit and green fruit was conditioned by different genes. Highly resistant pepper germplasm accessions PBC932, 80 and 81 were identified and their resistance introgressed into inbred breeding lines for worldwide use. A2 mating type isolates of *Phytophthora capsici* were first identified in 2008. A2 mating types are more aggressive than the A1 mating type

isolates. Pathotype 1, 2, and 3 were identified from an island-wide collection with pathotype 3 the predominant one. Using single plant purification for 4-5 generations the resistance levels of seven resistance sources was increased and resistant inbred lines were developed. Tomato leaf juice mixed with oatmeal extract and agar, a new medium was developed which supported abundant sporulation of *Pseudocercospora fuligena*, the causal agent of tomato black leaf mold. The resistance was found to be conditioned by two recessive genes acting epistatically in both PI133417 and PI254655. Most isolates of tomato Fusarium wilt in Taiwan were classified as TW1, ABA IGS genotype and Race 2. The population structure in Taiwan is simple and lacks genetic diversity. A great number of resistant inbred lines including fresh market tomato, cherry tomato and processing tomato were selected by screening for resistance at the seeding stage. Monitoring *P. infestans* during 1991-2008, revealed that a new genotype US-11 has completely replaced the old genotype US-1 in Taiwan. US-11 genotype isolates have no host specificity, are resistant to metalaxyl, and are all A1 mating type. The resistance to *P. infestans* was partially dominant and inherited as monogenic trait in both L3708 and L3684. Recently the physiological race has shifted from Race T1,2 to Race T1,2,3,5. Four highly resistant germplasm accessions L3683 L684, L3707and L3708 were identified and the resistance gene (*Ph*-3) of L3708 has been introgressed into *S. lycopersicum*. Nine highly resistant inbred lines CLN2037A-I and five F1 hybrids FMTT791~795 have been developed. FMTT795 has been released in Taiwan in 2005. In addition, I was lucky to join The Chinese Agricultural Technical Mission in the Kingdom of Saudi Arabia from 1981to 1983 where I was responsible for the survey and identification of vegetable diseases, survey results and photos of symptoms were published as "Crop Pests and Their Control in the Kingdom of Saudi Arabia".

**Key words:** mungbean, tomato, pepper, leaf spot, white spot, leaf blight, soybean rust, growing stage, epidemiology, resistance, anthracnose, Phytophthora blight, pathotype、black leaf mold, Fusarium wilt, late blight, race, mating type, resistant to metalaxyl, resistance detection